Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 19, No. 2, Summer. 2021, p. 169-184

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد 19، شماره 2، تابستان 1400، ص. 184-169

مقاله پژوهشی

تأثیر کاربرد اپی‌براسینولید بر تخصیص مواد فتوسنتزی، مقاومت به خشکی و عملکرد دانه دو ژنوتیپ لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris* L.)

مهسا محمدی[1*]، مجید پوریوسف[2]، افشین توکلی[3]

تاریخ دریافت: 1399/10/22
تاریخ پذیرش: 1400/03/10

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر کاربرد اپی‌براسینولید بر تخصیص مواد فتوسنتزی لوبیا، پژوهشی به‌صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان در سال زراعی 1395-1394 اجرا شد. در این پژوهش، آبیاری مطلوب و تنش خشکی در کرت‌های اصلی و ژنوتیپ‌های لوبیا (رقم کوشا و ژنوتیپ COS16) و غلظت‌های مختلف اپی‌براسینولید (عدم کاربرد هورمون یا شاهد، 2، 4 و 6 میکرومولار) به‌صورت فاکتوریل در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. در مرحله گل‌دهی، تنش خشکی اعمال (قطع آبیاری تا رسیدن پتانسیل آب خاک به 1/5- مگاپاسکال) و بوته‌های لوبیا با اپی‌براسینولید محلول‌پاشی شد و سپس آبیاری مجدد صورت گرفت. نتایج نشان داد که اثر اصلی تنش خشکی و نیز هورمون‌پاشی بر محتوای نسبی آب برگ، میزان پرولین، میزان مالون‌دی‌آلدهید، وزن خشک برگ، ساقه، غلاف و کل و عملکرد دانه معنی‌دار بود. هم‌چنین، اثر متقابل تنش خشکی در ژنوتیپ‌ها بر عملکرد دانه معنی‌دار بود. تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک برگ، ساقه، غلاف و عملکرد دانه شد و گیاه در شرایط تنش خشکی، مواد فتوسنتزی کمتری را به برگ و ساقه و مواد فتوسنتزی بیشتری را به غلاف، اختصاص داد. بالاترین عملکرد دانه در رقم کوشا در شرایط آبیاری مطلوب (با میانگین 3025/45 کیلوگرم بر هکتار) و پایین‌ترین میزان این صفت در ژنوتیپ COS16 در شرایط تنش خشکی (با میانگین 980/89 کیلوگرم بر هکتار) مشاهده گردید. کاربرد اپی‌براسینولید باعث افزایش وزن خشک برگ، ساقه، غلاف و عملکرد دانه در مقایسه با شاهد شد. بالاترین عملکرد دانه با کاربرد 2 میکرومولار اپی‌براسینولید (با میانگین 2068/2 کیلوگرم بر هکتار) حاصل شد و کاربرد این غلظت، عملکرد دانه را به‌میزان 46/07 درصد نسبت به شاهد افزایش داد. همچنین، کاربرد اپی‌براسینولید با کاهش در میزان مالون‌دی‌آلدهید و افزایش در محتوای نسبی آب برگ و میزان پرولین باعث افزایش مقاومت به تنش خشکی شد. بنابراین، کاربرد اپی‌براسینولید را به‌عنوان راهکاری جهت افزایش عملکرد دانه لوبیا و افزایش مقاومت به خشکی این گیاه می‌توان پیشنهاد نمود.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تنش خشکی، عملکرد دانه، مالون‌دی‌آلدهید، محتوای نسبی آب برگ

مقدمه

امروزه اهمیت پروتئین در رژیم غذایی بشر بر کسی پوشیده نیست و تلاش متخصصان در تأمین منابع پروتئینی و ترکیب آن‌ها با سایر منابع غذایی به‌منظور تأمین نیازهای غذایی بشر، سبب توجه ویژه آنان به حبوبات، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین منابع غذایی سرشار از پروتئین با محتوای 18 تا 32 درصد (Singh and Saxena, 2000) شده‌است. لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) با داشتن پروتئین، فیبر و مواد کانی بالا به‌عنوان یک غذای کامل مطرح است (Pfeiffer and McClafferty, 2007). خشکی، یکی از تنش‌های مهم غیرزیستی است که تغییرات زیادی را در خصوصیات فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاه القا می‌کند. تنش خشکی باعث کاهش عملکرد زیست‌توده، عملکرد دانه، شاخص برداشت و وزن دانه لوبیا می‌شود (Munoz-Perea *et al*., 2006). هم‌چنین، اعمال تنش خشکی در مرحله گل‌دهی به‌طور معنی‌داری موجب کاهش وزن خشک ساقه، وزن خشک برگ، وزن خشک غلاف، زیست‌توده، نسبت وزن ساقه، نسبت وزن برگ و عملکرد دانه گیاه لوبیا چیتی شد (Rezaei and Jabbari, 2015). یکی از موضوعات مورد اهمیت در شکل‌گیری عملکرد دانه چگونگی توزیع مواد فتوسنتزی در گیاهان می‌باشد. این موضوع خصوصاً زمانی که گیاه با تنش خشکی مواجه می‌شود ممکن است از اهمیت بیشتری برخوردار باشد. تجمع ماده‌ی خشک به‌عنوان یک صفت مهم برای حصول عملکرد بالا در حبوبات مورد توجه است (Saxena *et al*., 1990). اغلب همبستگی قوی و مثبت بین ماده‌ی خشک کل تولیدی و عملکرد دانه در شرایط تنش و بدون تنش رطوبتی مشاهده شده‌است (Shenkut and Brick, 2003). علاوه بر

1- دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
2- دانشیار گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
3- دانشیار گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
(*- نویسنده مسئول: mahsa89.mohammadi@gmail.com)
DOI: 10.22067/jcesc.2021.68288.1010

تجمع ماده‌ی خشک، تسهیم مواد پرورده بین اندام‌های مختلف گیاه در تعیین عملکرد دانه بسیار مهم است (Frahm *et al*., 2004). تنش خشکی الگوی تخصیص مواد فتوسنتزی را نیز تغییر می‌دهد. یک صفت مهم برای سازگاری به خشکی، ظرفیت ارقام برای توزیع مجدد مواد فتوسنتزی ذخیره شده به دانه است و ارقامی مقاوم به خشکی محسوب می‌شوند که در تولید مواد فتوسنتزی و انتقال به دانه و غلاف کارآمدتر باشند (Romdhane *et al*., 2009).

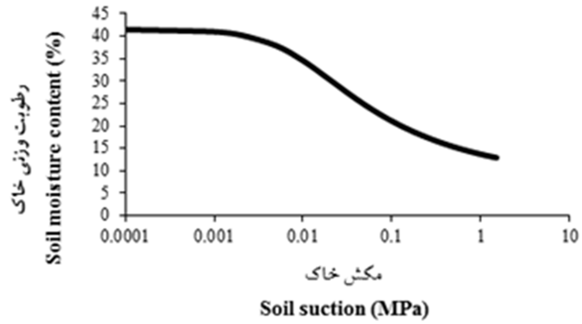
براسینواستروئیدها، گروهی از هورمون‌های استروئیدی هستند که نقشی محوری در بسیاری از پدیده‌های نموی ایفا می‌کنند و از طریق تغییر در متابولیسم گیاه و حفاظت گیاه در برابر تنش‌های محیطی، منجر به افزایش عملکرد گیاهان زراعی می‌شوند (Talaat and Shawky, 2013). اطلاعات زیادی مبنی بر مکانیزمی که براسینواستروئیدها باعث تحمل به تنش می‌شوند، وجود ندارد. به‌طورکلی پیشنهاد شده است که براسینواستروئیدها پاسخ به تنش را با یک توالی پیچیده از واکنش‌های بیوشیمیایی، مانند فعال‌سازی یا غیر فعال‌سازی واکنش‌های آنزیمی کلیدی، القای سنتز پروتئین‌ها و تولید ترکیبات شیمیایی دفاعی مختلف تنظیم می‌کنند (Bajguz and Hayat, 2009). در برخی مطالعات مشخص شده‌است که براسینواستروئیدها مقاومت گیاه در برابر تنش و آسیب‌های گیاهی را افزایش می‌دهند و موجب افزایش سازگاری در برابر شرایط نامساعد محیطی می‌شوند. برای مثال، کاربرد خارجی براسینولید با افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، محتوای پروتئین‌ها، محتوای نسبی آب برگ و محتوای پرولین، اثرات زیان‌بار تنش خشکی را در ذرت کاهش داد (Anjum *et al*., 2011). همچنین، کاربرد خارجی براسینولید، باعث بهبود مقاومت به خشکی رقم سوپرباسماتی برنج شد (Farooq *et al*., 2009). در مطالعه‌ای بیان شد که محلول‌پاشی خارجی براسینواستروئیدها باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسمیوتاز و افزایش غلظت قندهای محلول و پرولین شد که در نهایت منجر به کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدهید و هدایت الکتریکی در برگ‌های تنش‌دیده سویا گردید (Zhang *et al*., 2008).

همان‌گونه که اشاره گردید مکانیزم چگونگی تحمل گیاه به تنش با کاربرد براسینواستروئیدها مشخص نیست، بنابراین افزایش تحمل گیاه به تنش خشکی با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، افزایش محتوای پرولین و افزایش محتوای نسبی آب برگ با کاربرد هورمون اپی‌براسینولید و نیز افزایش عملکرد دانه از طریق افزایش تخصیص مواد فتوسنتزی به دانه‌ها با کاربرد این هورمون از جمله فرضیه‌های این مطالعه می‌باشد. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر کاربرد اپی‌براسینولید بر تخصیص مواد فتوسنتزی و برخی صفات مرتبط با مقاومت به خشکی دو ژنوتیپ لوبیا در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی و امکان افزایش عملکرد دانه لوبیا با کاربرد این هورمون انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در سال زراعی 1395-1394 در مزرعه‌ی تحقیقاتی دانشگاه زنجان واقع در عرض جغرافیایی 36 درجه و 40 دقیقه شمالی و طول جغرافیایی 48 درجه و 24 دقیقه شرقی و ارتفاع 1594 متر از سطح دریا اجرا شد. شهرستان زنجان دارای آب و هوای سرد و خشک کوهستانی با متوسط بارندگی حدود 293/5 میلی‌متر است که معمولاً از اواخر آبان شروع و تا اواسط بهار ادامه می‌یابد. آزمایش به‌صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد که در آن آبیاری مطلوب و اعمال تنش خشکی در کرت‌های اصلی قرار گرفت و ژنوتیپ‌های لوبیا (در دو سطح رقم کوشا با تیپ رشد ایستاده و رشد نامحدود و ژنوتیپ COS16 با تیپ رشد ایستاده و رشد محدود) و غلظت‌های مختلف براسینواستروئید (در چهار سطح عدم کاربرد هورمون یا شاهد، 2، 4 و 6 میکرومولار) به‌صورت فاکتوریل در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. به‌منظور آماده‌سازی زمین، در پاییز سال 1394 شخم عمیق زده شد و در فصل بهار جهت یکنواخت شدن وضعیت خاک مزرعه از دیسک و ماله استفاده گردید. کشت در اردیبهشت ماه سال 1395 انجام شد. هر کرت شامل چهار ردیف به طول سه متر بود. کاشت به‌صورت مسطح، فاصله‌ی ردیف‌های کاشت 50 سانتی‌متر، فاصله‌ی بوته‌ها بر روی ردیف پنج سانتی‌متر و تراکم 40 بوته در مترمربع در نظر گرفته شد. سیستم آبیاری به‌صورت قطره‌ای بود و اولین آبیاری بلافاصله پس از کاشت انجام شد و آبیاری‌های بعدی تا زمان اعمال تیمارها بر اساس شرایط محیطی هفته‌ای یکبار صورت گرفت. در مراحل مختلف رشد گیاه، علف‌های هرز از طریق وجین دستی کنترل شدند. در مرحله‌ی گل‌دهی (به‌گل رفتن 50 درصد بوته‌های واحدهای آزمایشی)، به‌طور همزمان برای هر دو ژنوتیپ، تنش خشکی اعمال شد. برای اعمال تنش خشکی، در مرحله‌ی گل‌دهی آبیاری قطع شده و تا رسیدن پتانسیل آب خاک به 1/5- مگاپاسکال ادامه یافت (Contour-Ansel *et al*., 2010) و سپس آبیاری مجدد انجام شد. همزمان با اعمال تنش خشکی، بوته‌های لوبیا با براسینواستروئید (اپی‌براسینولید، $C_{28}H_{48}O_6$، جرم مولکولی 480/68 گرم بر مول، سیگما، آمریکا) با غلظت‌های ذکر شده توسط آب‌پاش دستی محلول‌پاشی شد. برای تعیین پتانسیل آب خاک از منحنی رطوبتی خاک استفاده گردید (شکل 1). برای این منظور، بعد از قطع آبیاری هر دو روز یکبار نمونه‌برداری از خاک صورت گرفت و درصد رطوبت وزنی خاک تعیین شد و با کمک منحنی رطوبتی خاک، پتانسیل آب مشخص گردید و زمانی که پتانسیل آب خاک به 1/5- مگاپاسکال رسید تیمار تنش، آبیاری مجدد شد (مدت زمان اعمال تنش خشکی، 15 روز به‌طول انجامید). همچنین، تیمار شاهد به‌طور تقریبی هر هفته یکبار آبیاری انجام شد.

گردید.



شکل 1- منحنی رطوبتی خاک محل انجام پژوهش
Figure 1- Soil moisture curve of the place of research

محتوای نسبی آب برگ، میزان پرولین و میزان مالون‌دی‌آلدهید در زمان اوج تنش خشکی (زمانی که پتانسیل آب خاک به 1/5- مگاپاسکال رسیده و هورمون‌پاشی صورت گرفته بود) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، پس از جداسازی برگ‌ها از بوته‌ها، برگ‌ها در فویل آلومینیومی پیچیده شده و در کیسه‌های پلاستیکی قرار داده شد و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شده و وزن تر آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس برگ‌ها داخل پتری‌دیش محتوی آب مقطر قرار داده‌شد و به‌مدت 24 ساعت، جهت آب‌گیری کامل نگهداری شدند. پس از 24 ساعت وزن آماس آن‌ها اندازه‌گیری شد و سپس در آون در دمای 75 درجه سانتی‌گراد به‌مدت 24 ساعت خشک گردیده و وزن خشک برگ‌ها اندازه‌گیری شد. سپس محتوای نسبی آب برگ با استفاده از رابطه (1) محاسبه شد (Smart and Bingham, 1974).

(1) 100 × ((وزن خشک - وزن آماس) / (وزن خشک - وزن تر)) = محتوای نسبی آب برگ

برای اندازه‌گیری محتوای پرولین، 0/5 گرم از نمونه‌ی برگ تر به‌همراه 10 میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک 3 درصد در هاون کوبیده تا محلول همگن ایجاد شود. پس از سانتریفیوژ، دو میلی‌لیتر از محلول حاصل با دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و دو میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین در یک لوله‌ی آزمایش مخلوط شدند و به‌مدت یک ساعت در حمام بن ماری در دمای 100 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از گذشت یک ساعت، نمونه‌ها به حمام یخ منتقل شده و پس از سرد شدن، به محتویات لوله‌ی آزمایش، 4 میلی‌لیتر تولوئن اضافه و به‌شدت به‌هم زده شدند. در نهایت میزان جذب در طول موج 520 نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر (Lambda 25; PerkinElmer, Waltham, MA, USA) قرائت گردید (Bates *et al*., 1973). برای اندازه‌گیری محتوای مالون‌دی‌آلدهید، ابتدا 0/2 گرم برگ تر در هاون چینی کاملاً پودر شده و سپس 4 میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید 1 درصد به آن اضافه شد و کاملاً هموژنیزه گردید. سپس مخلوط به‌مدت 15 دقیقه در 12000 دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و 2 میلی‌لیتر از محلول روشناور در آن جمع‌آوری گردید. به محلول روشناور جمع‌آوری شده مقدار 4 میلی‌لیتر محلول 0/5 درصد تیوباربیتوریک اسید (TBA) حاوی 20 درصد تری‌کلرواستیک اسید (TCA) اضافه شد. مخلوط به‌مدت 30 دقیقه در حمام آب گرم در دمای 95 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس مخلوط بلافاصله در حمام آب یخ قرار داده‌شد تا کاملاً سرد شود. سپس مخلوط به‌مدت 10 دقیقه در 10000 دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول روشناور آن جمع‌آوری گردید. میزان جذب مخلوط در طول موج 532 نانومتر، به‌وسیله‌ی دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد و سپس جذب سایر رنگیزه‌های غیراختصاصی در 600 نانومتر تعیین شد و از میزان جذب در 532 نانومتر کسر گردید (Heath and Packer, 1968). اندازه‌گیری تخصیص مواد فتوسنتزی در دو مرحله (اوج تنش خشکی و یک هفته پس از آبیاری مجدد) صورت گرفت. به این منظور در هر مرحله، 10 بوته از هر واحد آزمایشی به‌طور تصادفی انتخاب و به برگ، ساقه و غلاف تفکیک شدند. سپس اندام‌های تفکیک شده به‌مدت 48 ساعت در آون الکتریکی در دمای 70 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و با ترازوی حساس توزین شدند. نسبت وزن برگ، ساقه و غلاف از تقسیم وزن خشک برگ، ساقه و غلاف به وزن خشک کل محاسبه گردید. در پایان فصل رشد و پس از رسیدگی کامل مزرعه، مساحت دو مترمربع از سطح مزرعه برداشت شده و عملکرد دانه اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس، مقایسه میانگین‌ها (با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد) و ضرایب همبستگی با استفاده از نرم‌افزار SAS (9.1) محاسبه گردید. جهت رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel (2013) استفاده شد.

نتایج و بحث

محتوای نسبی آب برگ (RWC)

اثر تنش خشکی و هورمون‌پاشی هر دو در سطح احتمال یک

درصد بر محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار بود (جدول 1). اعمال تنش خشکی باعث کاهش 35/04 درصدی در محتوای نسبی آب برگ شد (جدول 2). عدم تعادل بین عرضه و تقاضای آب در گیاه، محتمل‌ترین دلیل کاهش محتوای نسبی آب برگ در شرایط تنش خشکی است. به‌عبارت دیگر در شرایط تنش خشکی، به‌دلیل کاهش درصد رطوبت خاک، ریشه‌ها قادر به تأمین آب ازدست رفته از طریق تعرق نبوده و در نتیجه پتانسیل آب برگ و محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت. کمبود آب، محتوای نسبی آب را در برگ‌های لوبیا (Korir *et al*., 2006; Lizana *et al*., 2006) و عدس (Salehpour *et al*., 2009) نیز کاهش داده‌است. کاربرد غلظت‌های مختلف اپی‌براسینولید، محتوای نسبی آب برگ را در مقایسه با شاهد افزایش داد (جدول 2). بالاترین محتوای نسبی آب برگ با کاربرد 4 میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد که با کاربرد سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت و کاربرد این غلظت، محتوای نسبی آب برگ را به‌میزان 17/75 درصد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول 2). از آن‌جایی‌که محتوای نسبی آب برگ با جذب آب توسط ریشه‌ها و هم‌چنین با اتلاف آب در اثر تعرق مرتبط است، لذا افزایش محتوای نسبی آب برگ توسط اعمال براسینواستروئیدها ممکن است مربوط به کاهش تلفات آب گیاهچه‌ها در اثر تعرق (Li *et al*., 2008) و هم‌چنین، در نتیجه‌ی تنظیم اسمزی و افزایش جذب آب از خاک (Talaat and Shawky, 2016) باشد. از آن‌جایی‌که پرولین، اسیدآمینه‌ی کلیدی در تنظیم اسمزی است و در پژوهش حاضر نیز مقدار پرولین با کاربرد اپی‌براسینولید به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است (جدول 2)، بنابراین افزایش محتوای نسبی آب برگ با کاربرد اپی‌براسینولید می‌تواند به‌دلیل تنظیم اسمزی و افزایش جذب آب از خاک باشد. گزارش شده‌است که تنش خشکی موجب کاهش محتوای نسبی آب برگ‌های ذرت شد ولی کاربرد براسینولید باعث بهبود محتوای نسبی آب برگ در هر دو شرایط تنش و عدم تنش گردید (Anjum *et al*., 2011). همچنین، تحت تنش شدید خشکی، محتوای نسبی آب برگ و پتانسیل آب گیاهچه‌های ***Robinia pseudoacacia*** تیمار شده با 0/2 میلی‌گرم بر لیتر براسینولید به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از تیمار شاهد بوده‌است (Li *et al*., 2008). کاربرد براسینواستروئیدها در گیاهان مختلف از جمله لوبیا (***Phaseolus vulgaris***) (Rady, 2011)، گوجه‌فرنگی (***Solanum lycopersicum***) (Hayat *et al*., 2012) و برنج (***Oryza sativa***) (Thussagunpanit *et al*., 2015) نیز باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ شده‌است.

محتوای پرولین

اثر تنش خشکی در سطح پنج درصد و هورمون‌پاشی در سطح یک درصد بر محتوای پرولین معنی‌دار بود (جدول 1). اعمال تنش خشکی باعث افزایش 126/06 درصدی در محتوای پرولین نسبت به آبیاری مطلوب شد (جدول 2). افزایش اسمولیت‌های سازگار از قبیل پرولین، یک سازوکار محافظتی تحت تنش خشکی است که نقش بسیار مهمی در تنظیم اسمزی و افزایش مقاومت گیاهان به تنش خشکی دارد. به‌نظر می‌رسد تنش خشکی باعث می‌شود گلوتامین که پیش‌ماده مشترک ساخت کلروفیل و پرولین است، کم‌تر در مسیر ساخت کلروفیل شرکت داشته باشد و بیش‌تر در تولید پرولین مصرف شود. افزایش محتوای پرولین در شرایط تنش باعث محافظت از غشای سلولی، پروتئین‌ها، آنزیم‌های سیتوپلاسمی و کاهش میزان گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد (Liang *et al*., 2013). تنش خشکی باعث افزایش معنی‌داری در مقدار پرولین در نخود (Najaphy *et al*., 2010)، عدس (Allahmoradi *et al*., 2013) و باقلا (Siddiqui *et al*., 2015) نیز شده‌است. اگرچه در برخی از گیاهان ثابت شده‌است که تغییرات میزان پرولین با توانایی آن‌ها برای تحمل به شرایط تنش مرتبط است و می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای انتخاب گیاهان مقاوم به تنش استفاده شود (Niknam *et al*., 2006)، اما دیده شده که در گیاهان حساس به خشکی مانند کاساوا (Sundaresan and Sudhakaran, 1995) و لوبیا (Andrade *et al*., 1995) تجمع پرولین فقط نشانه‌ای از بروز تنش می‌باشد. با توجه به این‌که در این آزمایش نیز بین دو ژنوتیپ لوبیا از نظر تغییرات میزان پرولین تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول 2)، بنابراین به‌نظر می‌رسد در این آزمایش نیز تجمع پرولین فقط نشانه‌ای از اعمال تنش خشکی باشد. همچنین، کاربرد غلظت‌های مختلف اپی‌براسینولید باعث افزایش محتوای پرولین نسبت به شاهد شد که تنها در کاربرد 4 میکرومولار اپی‌براسینولید معنی‌دار بود (جدول 2). کاربرد غلظت 4 میکرومولار اپی‌براسینولید، محتوای پرولین را به‌میزان 82/22 درصد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول 2). براسینواستروئیدها با تأثیر بر بیان ژن‌های مسئول بیوسنتز پرولین، موجب افزایش محتوای پرولین می‌گردند (Talaat and Shawky, 2013). از آن‌جایی‌که براسینواستروئیدها موجب افزایش بیوسنتز اسیدهای نوکلئیک در سلول‌های گیاهی می‌شوند (Bajguz, 2000)، لذا ممکن است افزایش پرولین با اعمال اپی‌براسینولید، ناشی از افزایش سنتز اسیدهای نوکلئیک در سلول‌های گیاهی و تبدیل آن‌ها به اسید آمینه پرولین نیز باشد. گزارش شده‌است که اعمال براسینواستروئید با افزایش فعالیت‌های پرولین-5-کربوکسیلات سینتتاز (P5CS) و ارنیتین-8-آمینوترانسفراز (OAT) و بازداری از فعالیت پرولین دهیدروژناز (PDH) باعث افزایش مقدار پرولین در گیاه می‌شود (Zhanli *et al*., 2016). در پژوهش‌های دیگری نیز کاربرد براسینواستروئیدها در شرایط تنش موجب افزایش محتوای پرولین گردیده‌است (Rady, 2011; Agami, 2013).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مختلف دو ژنوتیپ لوبیا با اعمال چهار غلظت اپی‌براسینولید در دو شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی

Table 1- Analysis of variance for different traits of two common bean genotypes evaluated at four concentrations of EBL and two levels of irrigation (optimal and drought stress)

منبع تغییرات SOV	درجه آزادی d.f	Mean Squares میانگین مربعات															
		محتوای نسبی آب برگ Relative water content	محتوای پرولین Proline content	محتوای مالون‌دی‌آلدهید Malondialdehyde content	وزن خشک برگ † Leaf dry weight †	وزن خشک ساقه † Stem dry weight †	وزن خشک غلاف † Pod dry weight †	وزن خشک کل † Total dry weight †	نسبت وزن خشک برگ به کل † Ratio of leaf dry weight to total†	نسبت وزن خشک ساقه به کل † Ratio of stem dry weight to total †	نسبت وزن خشک غلاف به کل † Ratio of pod dry weight to total †	وزن خشک برگ †† Leaf dry weight ††	وزن خشک ساقه †† Stem dry weight ††	وزن خشک غلاف †† Pod dry weight ††	وزن خشک کل †† Total dry weight ††	نسبت وزن خشک برگ به کل †† Ratio of leaf dry weight to total ††	نسبت وزن خشک ساقه به کل †† Ratio of stem dry weight to total ††	نسبت وزن خشک غلاف به کل †† Ratio of pod dry weight to total ††	عملکرد دانه Seed yield
تکرار Replication	2	118.92ns	2.03ns	0.35ns	1.07ns	2.31ns	0.05ns	6.00ns	17.33ns	42.70ns	53.30ns	0.50ns	0.25ns	0.68ns	0.27ns	187.62ns	69.60ns	42.94ns	384286.77ns
آبیاری Irrigation	1	10666.75**	1228.01*	35.01**	27.33**	26.88*	0.88*	128.76*	18.28ns	0.26ns	22.90ns	6.43ns	26.98**	37.48**	191.85*	131.06ns	5.86ns	81.49*	29224641.05*
خطای اصلی Error	2	70.10	13.58	0.13	0.26	0.44	0.02	1.32	13.07	9.03	26.53	0.66	0.24	0.29	2.43	67.58	61.97	2.81	522929.00
ژنوتیپ‌ها Genotypes	1	143.11ns	0.05ns	3.38ns	0.42ns	0.31ns	0.004ns	1.61ns	22.52ns	8.68ns	3.24ns	1.66*	0.12ns	0.003ns	0.99ns	247.75**	103.80ns	30.82ns	2810849.76**
غلظت‌های اپی‌براسینولید EBL concentrations	3	280.78**	134.84**	3.62*	1.15*	1.52*	0.31**	6.94**	76.26ns	4.22ns	59.15**	1.45*	2.65*	8.38**	31.13**	12.92ns	90.46ns	165.57ns	1111848.91**
آبیاری×ژنوتیپ‌ها Irrigation×Genotypes	1	181.35ns	2.34ns	0.66ns	0.03ns	0.46ns	0.23*	1.78ns	111.32ns	20.84ns	35.83ns	0.005ns	2.15ns	0.0004ns	2.01ns	3.35ns	144.76ns	104.06ns	854880.42*
آبیاری× غلظت‌های اپی‌براسینولید Irrigation× EBL concentrations	3	102.43ns	11.36ns	0.19ns	0.75ns	0.34ns	0.02ns	1.85ns	47.63ns	11.26ns	22.24ns	0.23ns	0.41ns	1.96ns	3.75ns	14.12ns	40.53ns	99.72ns	103955.50ns
ژنوتیپ‌ها× غلظت‌های اپی‌براسینولید Genotypes× EBL concentrations	3	33.19ns	59.40ns	0.08ns	0.54ns	1.01ns	0.03ns	3.08ns	5.37ns	17.20ns	18.45ns	0.30ns	0.28ns	0.35ns	2.38ns	62.37ns	8.27ns	40.24ns	112591.72ns
آبیاری×ژنوتیپ‌ها× غلظت‌های اپی‌براسینولید Irrigation×Genotypes× EBL concentrations	3	27.72ns	35.18ns	0.64ns	0.07ns	0.39ns	0.01ns	0.50ns	20.51ns	45.42ns	8.89ns	0.53ns	0.60ns	1.78ns	2.61ns	57.56ns	110.90ns	309.88*	43080.59ns
خطای کل Total Error	28	49.64	22.79	1.12	0.39	0.48	0.03	1.51	37.18	38.20	11.21	0.38	0.63	0.72	3.03	25.56	45.91	77.40	139151.25

† اوج تنش خشکی (زمانی که پتانسیل آب خاک به ۱/۵- مگاپاسکال رسیده و هورمون‌پاشی صورت گرفته بود) و †† یک هفته پس از آبیاری مجدد (ns، * و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده‌ی عدم وجود تفاوت معنی‌دار، وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد است).

† Peak of drought stress and †† one week after re-irrigation (ns, * and ** indicate no significant and significant difference at the probability level of 5% and 1%, respectively).

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مختلف دو ژنوتیپ لوبیا با اعمال چهار غلظت اپی‌براسینولید در دو شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی

Table 2- Mean comparison for different traits of two common bean genotypes evaluated at four concentrations of EBL and two levels of irrigation (optimal and drought stress)

	محتوای نسبی آب برگ Relative water content (%)	محتوای پرولین Proline content (μmol g⁻¹ FW)	محتوای مالون‌دی‌آلدهید Malondialdehyde content (μmol g⁻¹ FW)	وزن خشک برگ † Leaf dry weight † (g plant⁻¹)	وزن خشک ساقه † Stem dry weight † (g plant⁻¹)	وزن خشک غلاف † Pod dry weight † (g plant⁻¹)	وزن خشک کل † Total dry weight † (g plant⁻¹)	نسبت وزن خشک برگ به کل † Ratio of leaf dry weight to total † (%)	نسبت وزن خشک ساقه به کل † Ratio of stem dry weight to total † (%)	نسبت وزن خشک غلاف به کل † Ratio of pod dry weight to total † (%)	وزن خشک برگ †† Leaf dry weight †† (g plant⁻¹)	وزن خشک ساقه †† Stem dry weight †† (g plant⁻¹)	وزن خشک غلاف †† Pod dry weight †† (g plant⁻¹)	وزن خشک کل †† Total dry weight †† (g plant⁻¹)	نسبت وزن خشک برگ به کل †† Ratio of leaf dry weight to total †† (%)	نسبت وزن خشک ساقه به کل †† Ratio of stem dry weight to total †† (%)	نسبت وزن خشک غلاف به کل †† Ratio of pod dry weight to total †† (%)	عملکرد دانه Seed yield (kg ha⁻¹)
شرایط آبیاری Irrigation levels																		
آبیاری مطلوب Optimal irrigation	85.10a	8.02b	1.82b	3.24a	3.39a	0.71a	7.33a	44.14a	46.02a	9.84a	2.23a	3.51a	3.68a	9.42a	23.90a	37.86a	38.24a	2650.0a
تنش خشکی Drought stress	55.28b	18.13a	3.53a	1.73b	1.89b	0.44b	4.06b	42.91a	45.88a	11.22a	1.50a	2.01b	1.91b	5.42b	27.20a	37.16a	35.63b	1089.4b
ژنوتیپ‌ها Genotypes																		
COS16	68.47a	13.11a	2.94a	2.39a	2.56a	0.57a	5.51a	42.84a	46.37a	10.79a	1.68b	2.81a	2.79a	7.28a	23.28b	38.98a	37.74a	1627.7b
کوشا Kusha	71.92a	13.05a	2.41a	2.57a	2.72a	0.58a	5.88a	44.21a	45.52a	10.27a	2.05a	2.71a	2.80a	7.56a	27.82a	36.04a	36.14a	2111.7a
غلظت‌های مختلف اپی‌براسینولید (میکرومولار) Different concentrations of EBL (μM)																		
0	63.25b	9.56b	3.38a	2.11b	2.16b	0.37c	4.65b	46.57a	45.19a	8.24c	1.35b	2.06b	1.71c	5.11b	26.48a	40.92a	32.60b	1415.9b
2	71.47a	13.69ab	2.77ab	2.47ab	2.67ab	0.61b	5.74a	41.61a	46.53a	11.87ab	2.02a	2.93a	2.57b	7.51a	26.29a	38.56a	35.16ab	2068.2a
4	74.48a	17.42a	2.50ab	2.47ab	2.71ab	0.76a	5.94a	41.31a	45.78a	12.91a	2.04a	3.00a	3.50a	8.55a	24.26a	35.17a	40.58a	2001.7a
6	71.57a	11.64b	2.07b	2.87a	3.02a	0.56b	6.46a	44.61a	46.30a	9.09bc	2.06a	3.04a	3.40a	8.51a	25.18a	35.41a	39.42ab	1993.0a

† اوج تنش خشکی (زمانی که پتانسیل آب خاک به ۱/۵- مگاپاسکال رسیده و هورمون پاشی صورت گرفته بود) و †† یک هفته پس از آبیاری مجدد (میانگین‌های با حروف مشابه مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر ندارند).

† Peak of drought stress and †† one week after re-irrigation (Mean values sharing similar letter(s) are not significant at p≤0.05, according to Duncan's multiple range tests).

محتوای مالون‌دی‌آلدهید

اثر تنش خشکی در سطح یک درصد و هورمون‌پاشی در سطح پنج درصد بر محتوای مالون‌دی‌آلدهید معنی‌دار بود (جدول 1). اعمال تنش خشکی باعث افزایش 93/96 درصدی در محتوای مالون‌دی‌آلدهید نسبت به آبیاری مطلوب شد (جدول 2). پراکسیداسیون لیپیدهای غشا به‌عنوان نشانه‌ای از آسیب اکسیداتیو در نظر گرفته‌شده و اغلب از آن به‌عنوان شاخصی برای تعیین میزان آسیب وارد شده به غشا تحت تنش استفاده می‌شود. در شرایط تنش خشکی، میزان پراکسیداسیون لیپیدها افزایش یافته و در نتیجه میزان مالون‌دی‌آلدهید در سلول‌های تحت تنش افزایش می‌یابد (Gunes *et al*., 2006; Eraslan *et al*., 2007). محققان در بررسی‌های متعدد، افزایش مالون‌دی‌آلدهید در شرایط تنش خشکی را گزارش کرده‌اند (Yasar *et al*., 2010; Svetleva *et al*., 2012). همچنین، کاربرد غلظت‌های مختلف اپی‌براسینولید باعث کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدهید نسبت به شاهد شد و پایین‌ترین محتوای مالون‌دی‌آلدهید با کاربرد 6 میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد که با کاربرد سایر غلظت‌های این هورمون تفاوت معنی‌داری نداشت و کاربرد این غلظت، محتوای مالون‌دی‌آلدهید را به‌میزان 38/76 درصد نسبت به شاهد کاهش داد (جدول 2). کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدهید در اثر استفاده از اپی‌براسینولید، بیان‌گر نقش این ترکیبات در حفظ ساختار و پایداری غشاهای پلاسمایی در حضور عوامل تنش‌زا می‌باشد. لذا در این پژوهش، کاهش تجمع مالون‌دی‌آلدهید در اثر تیمار با اپی‌براسینولید در شرایط تنش خشکی نشان‌دهنده‌ی کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و حفظ سلامت غشاء تحت تنش خشکی می‌باشد. از آن‌جایی‌که گیاه به‌منظور حفاظت از غشای سلولی و سایر اندام‌ها از خسارت اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن، سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیرآنزیمی را توسعه می‌دهد، بنابراین کاربرد اپی‌براسینولید از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و نیز افزایش محتوای پرولین (جدول 2) که به‌عنوان سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی محسوب می‌شود، منجر به کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و به‌دنبال آن کاهش پراکسیداسیون لیپیدی غشاها و در نتیجه تولید کمتر مالون‌دی‌آلدهید گردید. در این راستا، پژوهشگران متعددی عنوان داشتند که براسینواستروئیدها از طریق تأثیر بر بیان ژن‌های مسؤل کنترل فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باعث افزایش مقاومت گیاهان در برابر خسارت اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند (Bajguz and Hayat, 2009; Choe *et al*., 2006). گزارشی نیز مبنی بر کاهش مالون‌دی‌آلدهید با کاربرد اپی‌براسینولید وجود دارد و محققان افزایش مقدار و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پروتئین‌های دفاعی در حفاظت ساختمان کلروپلاست، دستگاه فتوسنتزی و کاهش تنش اکسیداتیو را دلیل این کاهش دانسته‌اند (Ozdamir *et al*., 2004). کاهش تجمع مالون‌دی‌آلدهید با اعمال براسینواستروئیدها توسط پژوهشگران دیگری نیز گزارش شده‌است (Rady, 2011; Talaat and Shawky, 2013; Thussagunpanit *et al*., 2015) که همسو با یافته‌های پژوهش حاضر می‌باشد.

تخصیص مواد فتوسنتزی به برگ

نتایج تجزیه واریانس صفت وزن خشک برگ در زمان اوج تنش خشکی نشان داد که اثر تنش خشکی در سطح یک درصد و هورمون‌پاشی در سطح پنج درصد بر این صفت معنی‌دار بود (جدول 1). اعمال تنش خشکی باعث کاهش 46/60 درصدی در وزن خشک برگ نسبت به آبیاری مطلوب شد (جدول 2). بالاترین وزن خشک برگ با کاربرد 6 میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد که با کاربرد سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت و کاربرد این غلظت، وزن خشک برگ را به‌میزان 36/02 درصد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول 2). نتایج تجزیه واریانس نسبت وزن خشک برگ به وزن خشک کل در زمان اوج تنش خشکی نشان‌دهنده‌ی عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین شرایط آبیاری، ژنوتیپ‌ها، هورمون‌پاشی و اثرات متقابل آن‌ها بود (جدول 1).

نتایج تجزیه واریانس صفت وزن خشک برگ در زمان یک هفته پس از آبیاری مجدد نیز بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها و هورمون‌پاشی هر دو در سطح احتمال پنج درصد بود (جدول 1). رقم کوشا (با میانگین 2/05 گرم بر بوته) نسبت به ژنوتیپ COS16 (با میانگین 1/68 گرم بر بوته) وزن خشک برگ بالاتری داشت (جدول 2). بالاترین وزن خشک برگ با کاربرد 6 میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد که با کاربرد سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت و کاربرد این غلظت، وزن خشک برگ را به‌میزان 52/59 درصد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول 2). نتایج تجزیه واریانس نسبت وزن خشک برگ به وزن خشک کل در زمان یک هفته پس از آبیاری مجدد نشان‌دهنده‌ی وجود تفاوت معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها در سطح احتمال یک درصد بود (جدول 1). رقم کوشا نسبت به ژنوتیپ COS16، از لحاظ اختصاص وزن خشک کل به وزن خشک برگ برتری داشت (در رقم کوشا، 27/82 درصد و در ژنوتیپ COS16، 23/28 درصد از وزن خشک کل به وزن خشک برگ اختصاص یافته بود) (جدول 2).

در بین اندام‌های گیاهی، برگ‌ها حساسیت بیشتری نسبت به تنش دارند (Gorka *et al*., 2011). در پژوهش حاضر نیز تنش خشکی، وزن خشک برگ را تحت تأثیر قرار داد و باعث کاهش معنی‌دار آن شد (جدول 2). کاهش مشاهده شده در وزن خشک برگ بر اثر تنش خشکی را می‌توان به کاهش ذخیره‌ی مواد فتوسنتزی در برگ و یا تسریع پیری و ریزش برگ‌های پایینی دانست. کاهش وزن

خشک برگ در گیاه یونجه نیز در اثر تنش شدید خشکی گزارش شده‌است (Erice *et al*., 2010). کاربرد غلظت‌های مختلف اپی‌براسینولید، وزن خشک برگ را در هر دو مرحله اوج تنش خشکی و یک هفته پس از آبیاری مجدد، نسبت به شاهد افزایش داد (جدول 2). افزایش سطح و وزن خشک برگ با کاربرد اپی‌براسینولید با توانایی گیاه در جذب بیشتر نور و در نتیجه بهبود کارایی فتوسنتز در ارتباط است. افزایش وزن خشک برگ در اثر کاربرد اپی‌براسینولید ممکن است به فعالیت بافت‌های مریستمی گیاه و افزایش تعداد و اندازه‌ی سلول‌ها نسبت داده شود که در نهایت اندازه‌ی برگ، سطح برگ و در نتیجه وزن خشک برگ را افزایش می‌دهد (Prakash *et al*., 2008).

معنی‌دار نبودن اثر تنش خشکی بر وزن خشک برگ در زمان یک هفته پس از آبیاری مجدد به احتمال زیاد پیری و ریزش اغلب برگ‌ها به‌دلیل نزدیک شدن به پایان فصل رشد و رسیدگی کامل مزرعه بود که باعث شد وزن خشک برگ در این زمان بین تیمارهای آبیاری مطلوب و تنش خشکی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشته باشد (جداول 1 و 2). وزن خشک برگ‌ها که در مرحله‌ی اول نمونه‌برداری در تیمار آبیاری مطلوب 44/14 درصد و در تیمار تنش خشکی 42/91 درصد از وزن خشک کل را تشکیل می‌داد از نظر درصد مواد تخصیص‌یافته به این اندام‌ها کاهش چشمگیری نشان داد (در تیمار آبیاری مطلوب 23/90 درصد و در تیمار تنش خشکی 27/20 درصد از وزن خشک کل به وزن خشک برگ اختصاص یافته بود) که بیانگر صدور مواد فتوسنتزی ساخته شده در طی این دوره به سایر بخش‌های گیاه می‌باشد. کاهش در وزن برگ و درصد مواد خشک اختصاص‌یافته به آن در مراحل آخر رشد با توجه به فرآیند پیری و ریزش برگ‌ها امری دور از انتظار نیست.

تخصیص مواد فتوسنتزی به ساقه

نتایج تجزیه واریانس صفت وزن خشک ساقه در زمان اوج تنش خشکی نشان داد که اثر تنش خشکی و هورمون‌پاشی هر دو در سطح احتمال پنج درصد بر این صفت معنی‌دار بود (جدول 1). اعمال تنش خشکی باعث کاهش 44/25 درصدی در وزن خشک ساقه نسبت به آبیاری مطلوب شد (جدول 2). بالاترین وزن خشک ساقه با کاربرد 6 میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد که با کاربرد سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت و کاربرد این غلظت، وزن خشک ساقه را به‌میزان 39/81 درصد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول 2). نتایج تجزیه واریانس نسبت وزن خشک ساقه به وزن خشک کل در زمان اوج تنش خشکی نشان‌دهنده‌ی عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین شرایط آبیاری، ژنوتیپ‌ها، هورمون‌پاشی و اثرات متقابل آن‌ها بود (جدول 1).

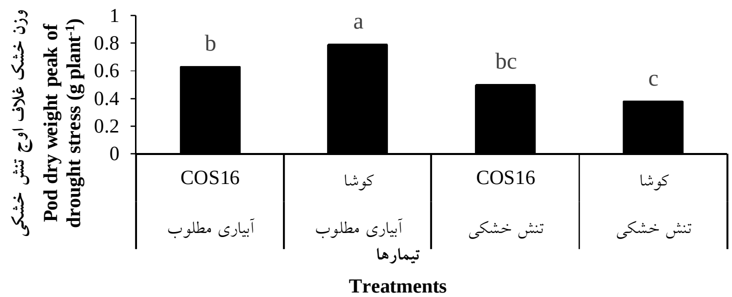
نتایج تجزیه واریانس صفت وزن خشک ساقه در زمان یک هفته پس از آبیاری مجدد نیز نشان داد که اثر تنش خشکی در سطح یک درصد و هورمون‌پاشی در سطح پنج درصد بر این صفت معنی‌دار بود (جدول 1). اعمال تنش خشکی باعث کاهش 42/74 درصدی در وزن خشک ساقه نسبت به آبیاری مطلوب شد (جدول 2). بالاترین وزن خشک ساقه با کاربرد 6 میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد که با کاربرد سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت و کاربرد این غلظت، وزن خشک ساقه را به‌میزان 47/57 درصد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول 2). نتایج تجزیه واریانس نسبت وزن خشک ساقه به وزن خشک کل در زمان یک هفته پس از آبیاری مجدد نشان‌دهنده‌ی عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین شرایط آبیاری، ژنوتیپ‌ها، هورمون‌پاشی و اثرات متقابل آن‌ها بود (جدول 1).

تنش خشکی وزن خشک ساقه را در هر دو مرحله‌ی نمونه‌برداری (اوج تنش خشکی و یک هفته پس از آبیاری مجدد) به‌طور معنی‌داری کاهش داد (جدول 2). این کاهش وزن را می‌توان به دو عامل کاهش فتوسنتز جاری و نیز افزایش میزان انتقال مجدد مواد فتوسنتزی از ساقه به غلاف در شرایط تنش خشکی و در نتیجه تخلیه‌ی ذخایر ساقه مرتبط دانست. از آن جایی که، از مرحله‌ی شروع پر شدن دانه به بعد، شکل‌گیری مقصدهای قوی (دانه‌های در حال رشد) و در نتیجه نیاز بالا به مواد فتوسنتزی، از یک‌سو و کاهش اندازه‌ی مبدأ فتوسنتزی، به‌دلیل وجود محدودیت‌های بیرونی و درونی (محدودیت عوامل محیطی و پیری برگ‌ها) و در نتیجه عرضه‌ی پایین مواد فتوسنتزی از سوی دیگر، شرایط محدودیت مبدأ را در گیاه ایجاد می‌کند، بنابراین در این حالت انتقال مجدد مواد ذخیره شده‌ی ساقه جهت جبران محدودیت مبدأ رخ می‌دهد. کاهش وزن خشک ساقه در اثر تنش خشکی در پژوهش‌های دیگری روی نخود (*Cicer arietinum*) (Sivaramaiah *et al*., 2007) و یونجه (*Medicago sativa*) (Erice *et al*., 2010) نیز گزارش شده‌است. همچنین، افزایش وزن خشک ساقه در هر دو مرحله اوج تنش خشکی و یک هفته پس از آبیاری مجدد، با کاربرد غلظت‌های مختلف اپی‌براسینولید نسبت به شاهد می‌تواند به‌دلیل افزایش سرعت فتوسنتز و در نتیجه افزایش ماده‌ی خشک تولیدی و ذخیره‌ی بیشتر مواد فتوسنتزی در این تیمارها باشد (جدول 2).

تخصیص مواد فتوسنتزی به غلاف

نتایج تجزیه واریانس صفت وزن خشک غلاف در زمان اوج تنش خشکی نشان داد که اثر تنش خشکی در سطح پنج درصد، هورمون‌پاشی در سطح یک درصد و اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ‌ها در سطح پنج درصد بر این صفت معنی‌دار بود (جدول 1). رقم کوشا در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی (به‌ترتیب با میانگین‌های 0/79 و 0/38 گرم بر بوته) به‌ترتیب بالاترین و پایین‌ترین وزن خشک غلاف را داشت (شکل 2). اعمال تنش خشکی در ژنوتیپ COS16 باعث کاهش 20/63 درصدی و در رقم کوشا باعث کاهش 51/90 درصدی در وزن خشک غلاف شد (شکل 2).

همچنین، بالاترین وزن خشک غلاف با کاربرد 4 میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد به‌طوری‌که کاربرد این غلظت، وزن خشک غلاف را به‌میزان 105/41 درصد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول 2). نتایج تجزیه واریانس نسبت وزن خشک غلاف به وزن خشک کل در زمان اوج تنش خشکی نیز نشان داد که اثر هورمون‌پاشی در سطح احتمال یک درصد بر این صفت معنی‌دار بود (جدول 1). بالاترین نسبت وزن خشک غلاف به وزن خشک کل با کاربرد 4 میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد که با کاربرد غلظت 2 میکرومولار از این هورمون تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول 2). کاربرد غلظت 4 میکرومولار اپی‌براسینولید، نسبت وزن خشک غلاف به وزن خشک کل را به‌میزان 56/67 درصد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول 2).



شکل 2- اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ‌ها بر وزن خشک غلاف در زمان اوج تنش خشکی (میانگین‌های با حروف مشابه مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد، تفاوت معنی‌داری ندارند)

Figure 2- Interaction between irrigation levels and genotypes on the pod dry weight of the peak of the drought stress (Mean values sharing similar letter(s) are not different, significantly at p≤0.05, according to Duncan's multiple range tests)

نتایج تجزیه واریانس صفت وزن خشک غلاف در زمان یک هفته پس از آبیاری مجدد نیز نشان داد که اثر تنش خشکی و هورمون‌پاشی هر دو در سطح احتمال یک درصد بر این صفت معنی‌دار بود (جدول 1). اعمال تنش خشکی باعث کاهش 48/10 درصدی در وزن خشک غلاف نسبت به آبیاری مطلوب شد (جدول 2). بالاترین وزن خشک غلاف با کاربرد 4 میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد که با کاربرد غلظت 6 میکرومولار از این هورمون تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول 2). کاربرد غلظت 4 میکرومولار اپی‌براسینولید، وزن خشک غلاف را به‌میزان 104/68 درصد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول 2). نتایج تجزیه واریانس نسبت وزن خشک غلاف به وزن خشک کل در زمان یک هفته پس از آبیاری مجدد نشان‌دهنده‌ی وجود تفاوت معنی‌دار بین تنش خشکی و اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ‌ها و هورمون‌پاشی هر دو در سطح احتمال پنج درصد بود (جدول 1). ژنوتیپ COS16 در شرایط آبیاری مطلوب با کاربرد 6 میکرومولار اپی‌براسینولید (با میانگین 46/78 درصد) بالاترین نسبت وزن خشک غلاف به وزن خشک کل را داشت که به‌جز تیمار رقم کوشا در شرایط اعمال تنش خشکی بدون کاربرد هورمون، با سایر تیمارهای مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نداشت و رقم کوشا در شرایط اعمال تنش خشکی بدون کاربرد هورمون (با میانگین 20/41 درصد) پایین‌ترین این صفت را به خود اختصاص داد (جدول 3). اعمال تنش خشکی تنها در رقم کوشا بدون کاربرد هورمون باعث کاهش نسبت وزن خشک غلاف به وزن خشک کل نسبت به آبیاری مطلوب شد و در سایر تیمارهای مورد آزمایش، نسبت وزن خشک غلاف به وزن خشک کل در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (جدول 3).

در مرحله‌ی اول نمونه‌برداری بخش عمده‌ی وزن گیاه را ساقه (46/02 درصد در شرایط آبیاری مطلوب و 45/88 درصد در شرایط تنش خشکی) و کمترین ماده‌ی خشک را غلاف (9/84 درصد در شرایط آبیاری مطلوب و 11/22 درصد در شرایط تنش خشکی) تشکیل داد ولی از این مرحله به بعد افزایش قابل ملاحظه‌ای در وزن خشک و درصد تخصیص مواد فتوسنتزی به غلاف مشاهده شد (38/24 درصد در شرایط آبیاری مطلوب و 35/63 درصد در شرایط تنش خشکی، از ماده‌ی خشک اندام هوایی به غلاف اختصاص یافت). این افزایش سهم با کاهش در درصد مواد فتوسنتزی اختصاص یافته به برگ و ساقه همراه بود و بیانگر تغییر مسیر مواد فتوسنتزی از سایر اندام‌ها به دانه می‌باشد (جدول 2). همچنین، در شرایط تنش خشکی، وزن خشک غلاف در هر دو ژنوتیپ کاهش یافت ولی درصد بیشتری از زیست‌توده‌ی گیاه به غلاف اختصاص پیدا کرد (در شرایط آبیاری مطلوب، 9/84 درصد و در شرایط اعمال تنش خشکی، 11/22 درصد از وزن خشک کل به وزن خشک غلاف اختصاص یافته بود ولی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشتند) (جدول 2).

جدول 3- اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ‌ها و هورمون‌پاشی بر نسبت وزن خشک غلاف به کل در زمان یک هفته پس از آبیاری مجدد

Table 3- Interaction between irrigation levels and genotypes and hormone spraying on the ratio of pod dry weight to total of the one week after re-irrigation

شرایط آبیاری Irrigation levels	ژنوتیپ‌ها Genotypes	غلظت‌های مختلف اپی‌براسینولید Different concentrations of EBL (µM)	نسبت وزن خشک غلاف به کل در زمان یک هفته پس از آبیاری مجدد Ratio of pod dry weight to total of the one week after re-irrigation
آبیاری مطلوب Optimal irrigation	COS16	0	31.31 ab
		2	29.71 ab
		4	42.49 a
		6	46.78 a
	Kusha	0	38.8 a
		2	36.06 ab
		4	39.74 a
		6	41.05 a
تنش خشکی Drought stress	COS16	0	39.88 a
		2	43.81 a
		4	37.82 a
		6	30.12 ab
	Kusha	0	20.41 b
		2	31.05 ab
		4	42.27 a
		6	39.71 a

میانگین‌های با حروف مشابه مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد، تفاوت معنی‌داری ندارند.

Mean values sharing similar letter(s) are not different, significantly at p≤0.05, according to Duncan's multiple range tests.

بنابراین، مشاهده شد که گیاه لوبیا در شرایط تنش خشکی با اختصاص کمتر مواد فتوسنتزی به برگ و ساقه و اختصاص بیشتر مواد فتوسنتزی به غلاف، تمایل به اجتناب از شرایط تنش‌زا (Rezaei and Jabbari, 2015) دارد. در شرایط آبیاری مطلوب، وزن خشک غلاف با وزن خشک برگ ($r=0/53^{**}$) و وزن خشک ساقه ($r=0/55^{**}$) همبستگی مثبت و معنی‌داری نشان داد ولی در شرایط اعمال تنش خشکی، همبستگی مثبت ولی ضعیفی بین وزن خشک غلاف با وزن خشک برگ ($r=0/45^{*}$) و وزن خشک ساقه ($r=0/39^{ns}$) دیده شد که نشان می‌دهد در شرایط آبیاری مطلوب با افزایش رشد اندام‌های هوایی و افزایش فتوسنتز خالص، وزن خشک غلاف افزایش یافت ولی در شرایط اعمال تنش خشکی، اختصاص کمتر مواد فتوسنتزی به برگ و ساقه و نیز افزایش انتقال مجدد مواد فتوسنتزی، باعث افزایش وزن خشک غلاف گردید (جداول 4 و 5). به نظر می‌رسد که کاربرد اپی‌براسینولید به‌دلیل افزایش سرعت فتوسنتز و تحریک رشد اندام‌های هوایی، باعث افزایش وزن خشک برگ و ساقه و نهایتاً افزایش وزن خشک غلاف و تخصیص بیشتر مواد فتوسنتزی به غلاف نسبت به شاهد گردید (جدول 2).

وزن خشک کل گیاه

نتایج تجزیه واریانس صفت وزن خشک کل گیاه در زمان اوج تنش خشکی نشان داد که اثر تنش خشکی در سطح پنج درصد و هورمون‌پاشی در سطح یک درصد بر این صفت معنی‌دار بود (جدول 1). اعمال تنش خشکی باعث کاهش 44/61 درصدی در وزن خشک کل گیاه نسبت به آبیاری مطلوب شد (جدول 2). بالاترین وزن خشک کل گیاه با کاربرد 6 میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد که با کاربرد سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت و کاربرد این غلظت، وزن خشک کل گیاه را به‌میزان 38/92 درصد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول 2). نتایج تجزیه واریانس صفت وزن خشک کل گیاه در زمان یک هفته پس از آبیاری مجدد نیز نشان داد که اثر تنش خشکی در سطح پنج درصد و هورمون‌پاشی در سطح یک درصد بر این صفت معنی‌دار بود (جدول 1). اعمال تنش خشکی باعث کاهش 42/46 درصدی در وزن خشک کل گیاه نسبت به آبیاری مطلوب شد (جدول 2). بالاترین وزن خشک کل گیاه با کاربرد 4 میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد که با کاربرد سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت و کاربرد این غلظت، وزن خشک کل گیاه را به‌میزان 67/32 درصد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول 2). در شرایط آبیاری مطلوب، به‌دلیل فراهمی رطوبت و در نتیجه مهیا بودن شرایط رشدی، وزن خشک کل گیاه به‌طور معنی‌داری بیش از تیمار تنش خشکی بود ولی در شرایط تنش خشکی، به‌دلیل کاهش آماس سلولی و به‌دنبال آن کاهش سطح و وزن خشک برگ و از طرف دیگر کاهش سرعت فتوسنتز باعث کاهش وزن خشک کل گیاه گردید (جدول 2). محققین اظهار داشتند نخستین پاسخ گیاه به تنش خشکی بسته شدن روزنه‌ها، کاهش رشد برگ‌ها و در نتیجه کاهش تولید مواد فتوسنتزی خواهد بود که در نهایت باعث کاهش وزن خشک کل گیاه می‌شود (Neumann, 1995).

جدول 4- همبستگی صفات مختلف دو ژنوتیپ لوبیا با اعمال چهار غلظت اپی‌براسینولید در شرایط آبیاری مطلوب

Table 4- Correlations for different traits of two common bean genotypes evaluated at four concentrations of EBL and level of optimal irrigation

	وزن خشک برگ Leaf dry weight	وزن خشک ساقه Stem dry weight	وزن خشک غلاف Pod dry weight	وزن خشک کل Total dry weight	نسبت وزن خشک برگ به کل Ratio of leaf dry weight to total	نسبت وزن خشک ساقه به کل Ratio of stem dry weight to total	نسبت وزن خشک غلاف به کل Ratio of pod dry weight to total
وزن خشک ساقه Stem dry weight	0.80^{**}						
وزن خشک غلاف Pod dry weight	0.53^{**}	0.55^{**}					
وزن خشک کل Total dry weight	0.88^{**}	0.90^{**}	0.82^{**}				
نسبت وزن خشک برگ به کل Ratio of leaf dry weight to total	0.26^{ns}	-0.23^{ns}	-0.47^{*}	-0.21^{ns}			
نسبت وزن خشک ساقه به کل Ratio of stem dry weight to total	-0.31^{ns}	0.13^{ns}	-0.57^{**}	-0.30^{ns}	-0.18^{ns}		
نسبت وزن خشک غلاف به کل Ratio of pod dry weight to total	0.08^{ns}	0.05^{ns}	0.82^{**}	0.40^{ns}	-0.56^{**}	-0.72^{**}	
عملکرد دانه Seed yield	0.60^{**}	0.56^{**}	0.33^{ns}	0.56^{**}	-0.02^{ns}	-0.09^{ns}	0.09^{ns}

ns، * و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده‌ی عدم تفاوت معنی‌دار و وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد است.

ns, * and **: no significant and significant difference at the probability level of 5% and 1%, respectively.

همچنین، بالا بودن ماده‌ی خشک تولیدی با کاربرد غلظت‌های مختلف اپی‌براسینولید در هر دو مرحله اوج تنش خشکی و یک هفته پس از آبیاری مجدد (جدول 2)، می‌تواند به‌دلیل گسترش بیشتر سطح برگ باشد، که با ایجاد منبع فیزیولوژیکی کارآمد برای استفاده هرچه بیشتر از نور دریافتی باعث افزایش تولید ماده‌ی خشک بیشتر شده‌است. گزارش شده‌است که کاربرد براسینولید در سویا از طریق افزایش پتانسیل آب برگ، محتوای کلروفیل و فتوسنتز باعث افزایش سطح برگ، اجزای وابسته به عملکرد، ماده‌ی خشک و در نتیجه افزایش عملکرد زیست‌توده می‌گردد (Zhang *et al*., 2008).

عملکرد دانه

اثر تنش خشکی و اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ‌ها (هر دو در سطح احتمال پنج درصد) و ژنوتیپ‌ها و هورمون‌پاشی (هر دو در سطح احتمال یک درصد) بر عملکرد دانه معنی‌دار بود (جدول 1). رقم کوشا در شرایط آبیاری مطلوب (با میانگین 3025/45 کیلوگرم بر هکتار) بالاترین و ژنوتیپ COS16 در شرایط اعمال تنش خشکی (با میانگین 980/89 کیلوگرم بر هکتار) پایین‌ترین عملکرد دانه را داشتند (شکل 3). اعمال تنش خشکی در رقم کوشا باعث کاهش 60/40 درصدی و در ژنوتیپ COS16 باعث کاهش 56/88 درصدی در عملکرد دانه شد (شکل 3). کاربرد غلظت‌های مختلف اپی‌براسینولید باعث افزایش عملکرد دانه نسبت به شاهد شد و بالاترین عملکرد دانه با کاربرد 2 میکرومولار اپی‌براسینولید حاصل شد که با کاربرد سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت و کاربرد این غلظت، عملکرد دانه را به‌میزان 46/07 درصد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول 2).

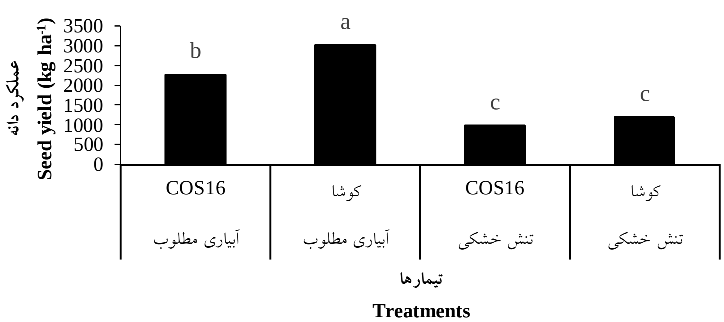
جدول 5- همبستگی صفات مختلف دو ژنوتیپ لوبیا با اعمال چهار غلظت اپی‌براسینولید در شرایط تنش خشکی

Table 5- Correlations for different traits of two common bean genotypes evaluated at four concentrations of EBL and level of drought stress

	وزن خشک برگ **Leaf dry weight**	وزن خشک ساقه **Stem dry weight**	وزن خشک غلاف **Pod dry weight**	وزن خشک کل **Total dry weight**	نسبت وزن خشک برگ به کل **Ratio of leaf dry weight to total**	نسبت وزن خشک ساقه به کل **Ratio of stem dry weight to total**	نسبت وزن خشک غلاف به کل **Ratio of pod dry weight to total**
وزن خشک ساقه Stem dry weight	0.69^{**}						
وزن خشک غلاف Pod dry weight	0.45^{*}	0.39^{ns}					
وزن خشک کل Total dry weight	0.86^{**}	0.89^{**}	0.70^{**}				
نسبت وزن خشک برگ به کل Ratio of leaf dry weight to total	0.39^{ns}	-0.25^{ns}	-0.33^{ns}	-0.11^{ns}			
نسبت وزن خشک ساقه به کل Ratio of stem dry weight to total	-0.09^{ns}	0.53^{**}	-0.36^{ns}	0.12^{ns}	-0.45^{*}		
نسبت وزن خشک غلاف به کل Ratio of pod dry weight to total	-0.29^{ns}	-0.26^{ns}	0.66^{**}	-0.01^{ns}	-0.54^{**}	-0.50^{*}	
عملکرد دانه Seed yield	0.53^{**}	0.60^{**}	0.56^{**}	0.69^{**}	-0.24^{ns}	0.03^{ns}	0.21^{ns}

ns، * و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده‌ی عدم تفاوت معنی‌دار و وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد است.

ns, * and **: no significant and significant difference at the probability level of 5% and 1%, respectively.



شکل 3- اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ‌ها بر عملکرد دانه (میانگین‌های با حروف مشابه مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد، تفاوت معنی‌داری ندارند)

Figure 3- Interaction between irrigation levels and genotypes on the seed yield (Mean values sharing similar letter(s) are not different, significantly at p≤0.05, according to Duncan's multiple range tests)

کاهش سطح و وزن خشک برگ در اثر تنش خشکی باعث کاهش توان تولید گیاه شد و میزان فتوسنتز جاری گیاه را کاهش داد (Mohammadi *et al.*, 2019) و با کاهش فتوسنتز جاری، عملکرد دانه در هر دو ژنوتیپ کاهش یافت. همبستگی مثبت عملکرد دانه با وزن خشک برگ (در شرایط آبیاری مطلوب $r=0/60^{**}$ و در شرایط اعمال تنش خشکی $r=0/53^{**}$) نیز تأییدکننده‌ی این مسأله است که

عملکرد دانه به فتوسنتز جاری گیاه وابسته است (جداول 4 و 5). نتایج تحقیقات سایر آزمایش‌ها نیز حاکی از کاهش عملکرد دانه لوبیا بر اثر تنش خشکی است (Ahmed and Suliman, 2010; Bastos *et al*., 2011). رقم کوشا در شرایط آبیاری مطلوب، به‌دلیل بالا بودن وزن خشک غلاف (شکل 2) و عملکرد دانه (شکل 3)، نسبت به ژنوتیپ COS16، ژنوتیپ برتری بود ولی تنش خشکی در رقم کوشا نسبت به ژنوتیپ COS16 تأثیر منفی بیش‌تری گذاشت و باعث کاهش بیش‌تری در وزن خشک غلاف (شکل 2) و عملکرد دانه (شکل 3) این رقم نسبت به ژنوتیپ COS16 شد. ضریب همبستگی عملکرد دانه با وزن خشک کل (در شرایط آبیاری مطلوب $r=0/56^{**}$ و در شرایط اعمال تنش خشکی $r=0/69^{**}$) مثبت و معنی‌دار بود که نشان می‌دهد با افزایش زیست‌توده، عملکرد دانه افزایش داشته‌است (جداول 4 و 5). با توجه به این‌که دانه حاصل فعالیت فتوسنتزی اندام‌هایی نظیر شاخ و برگ است، همبستگی قوی این دو صفت نشان می‌دهد که برای داشتن عملکرد زیاد به گیاهانی با قدرت رویشی مناسب احتیاج است. بنابراین، بالا بودن عملکرد دانه در رقم کوشا نسبت به ژنوتیپ COS16 را می‌توان به بالا بودن وزن خشک کل در این رقم نسبت داد. گزارش شده‌است که افزایش عملکرد دانه با کاربرد اپی‌براسینولید ممکن است به‌دلیل راندمان فتوشیمیایی بالاتر از نظر جذب دی‌اکسیدکربن باشد که به افزایش تجمع رنگدانه‌های فتوسنتزی به‌ویژه کلروفیل و محتوای بیشتر پروتئین‌های محلول نسبت داده می‌شود (Bera *et al*., 2014). محلول‌پاشی با براسینولید موجب افزایش عملکرد دانه ماش (*Vigna radiata*) (Sengupta *et al*., 2009)، سویا (*Glycine max*) (Zhang *et al*., 2008)، نخود (*Cicer arietinum*) (Ali *et al*., 2007)، آفتابگردان (*Helianthus annuus*) (Bera *et al*., 2014) و ذرت (*Zea mays*) (Anjum *et al*., 2011) نیز شده‌است.

نتیجه‌گیری

کاربرد اپی‌براسینولید باعث افزایش عملکرد دانه لوبیا شد و استفاده از پایین‌ترین غلظت اپی‌براسینولید (2 میکرومولار) باعث بیشترین اثر مثبت در عملکرد دانه گردید. همچنین، کاربرد اپی‌براسینولید با کاهش در میزان مالون‌دی‌آلدهید و افزایش در محتوای نسبی آب برگ و میزان پرولین باعث افزایش مقاومت به تنش خشکی این گیاه شد. در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، رقم کوشا در شرایط آبیاری مطلوب، به‌دلیل بالا بودن عملکرد دانه، ژنوتیپ برتری بود ولی تنش خشکی در رقم کوشا تأثیر منفی بیش‌تری گذاشت. به‌طورکلی، کاربرد اپی‌براسینولید را به‌عنوان راهکاری جهت بهبود رشد و عملکرد لوبیا هم در شرایط آبیاری مطلوب و هم در شرایط تنش خشکی می‌توان پیشنهاد نمود، ضمن این‌که دستیابی به اطلاعاتی جامع در زمینه‌ی تأثیرات مثبت اپی‌براسینولید نیازمند مطالعه‌ی این هورمون در شرایط مختلف آب و هوایی نیز می‌باشد.

References

1. Agami, R. A. 2013. Alleviating the adverse effects of NaCl stress in maize seedlings by pretreating seeds with salicylic acid and 24-epibrassinolide. South African Journal of Botany 88: 171-177.
2. Ahmed, F., and Suliman, A. 2010. Effect of water stress applied at different stages of growth on seed yield and water use efficiency of cowpea. Agriculture and Biology Journal of North America 1: 534-540.
3. Ali, B., Hayat, S., and Ahmad, A. 2007. 28-Homobrassinolide ameliorates the saline stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Environmental and Experimental Botany 59: 217-223.
4. Allahmoradi, P., Mansourifar, C., Saidi, M., and Honarmand, S. J. 2013. Water deficiency and its effects on grain yield and some physiological traits during different growth stages in lentil (*Lens culinaris* L.) cultivars. Annals of Biological Research 4: 139-145.
5. Andrade, J., Larque-Saavedra, A., and Trejo, C. 1995. Proline accumulation in leaves of four cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. with different drought resistance. Phyton-Revista Internacional de Botanica Experimental 57: 149-158.
6. Anjum, S., Wang, L., Farooq, M., Hussain, M., Xue, L., and Zou, C. 2011. Brassinolide application improves the drought tolerance in maize through modulation of enzymatic antioxidants and leaf gas exchange. Journal of Agronomy and Crop Science 197: 177-185.
7. Bajguz, A. 2000. Effect of brassinosteroids on nucleic acids and protein content in cultured cells of *Chlorella vulgaris*. Plant Physiology and Biochemistry 38: 209-215.
8. Bajguz, A., and Hayat, S. 2009. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. Plant Physiology and Biochemistry 47: 1-8.
9. Bastos, E., Nascimento, S., Silva, E., Freire Filho, F., and Gomide, R. 2011. Identification of cowpea genotypes for drought tolerance. Revista Ciencia Agronomica 42: 100-107.
10. Bates, L., Waldren, R., and Teare, I. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.
11. Bera, A., Pramanik, K., and Mandal, B. 2014. Response of biofertilizers and homobrassinolide on growth, yield

and oil content of sunflower (*Helianthus annuus* L.). African Journal of Agricultural Research 9: 3494-3503.
12. Choe, S. 2006. Brassinosteroid biosynthesis and inactivation. Physiologia Plantarum 126 (4): 539-548.
13. Contour-Ansel, D., Torres-Franklin, M., Zuily-Fodil, Y., and De Carvalho, M. 2010. An aspartic acid protease from common bean is expressed 'on call' during water stress and early recovery. Journal of Plant Physiology 167: 1606-1612.
14. Eraslan, F., Inal, A., Savasturk, O., and Gunes, A. 2007. Changes in antioxidative system and membrane damage of lettuce in response to salinity and boron toxicity. Scientia Horticulturae 114: 5-10.
15. Erice, G., Louahlia, S., Irigoyen, J. J., Sanchez-Diaz, M. And Avice, J. C. 2010. Biomass partitioning, morphology and water status of four alfalfa genotypes submitted to progressive drought and subsequent recovery. Journal of Plant Physiology 167: 114-120.
16. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., and Basra, S. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development 29: 185-212.
17. Frahm, M. A., Rosas, J. C., Mayek-Pérez, N., López-Salinas, E., Acosta-Gallegos, J. A., and Kelly, J. D. 2004. Breeding beans for resistance to terminal drought in the lowland tropics. Euphytica 136: 223-232.
18. Gorka, E., Louahlia, S., Irigoyen, J. J., Sánchez-Díaz, M., Alami, I. T. and Avice, J. C. 2011. Water use efficiency, transpiration and net CO_2 exchange of four alfalfa genotypes submitted to progressive drought and subsequent recovery. Environmental and Experimental Botany 72: 123-130.
19. Gunes, A., Cicek, N., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Guneri, E., and Guzelordu, T. 2006. Genotypic response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars to drought stress implemented at pre-and post-anthesis stages and its relations with nutrient uptake and efficiency. Plant Soil and Environment 52: 368-376.
20. Hayat, S., Alyemeni, M. N., and Hasan, S. A. 2012. Foliar spray of brassinosteroid enhances yield and quality of *Solanum lycopersicum* under cadmium stress. Saudi Journal of Biological Sciences 19: 325-335.
21. Heath, R. L., and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.
22. Korir, P., Nyabundi, J., and Kimurto, P. 2006. Genotypic response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to moisture stress conditions in Kenya. Asian Journal of Plant Sciences 5: 24-32.
23. Li, K., Wang, H., Han, G., Wang, Q., and Fan, J. 2008. Effects of brassinolide on the survival, growth and drought resistance of *Robinia pseudoacacia* seedlings under water-stress. New Forests 35: 255-266.
24. Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S. K., and Becker, D. F. 2013. Proline mechanisms of stress survival. Antioxidants and Redox Signaling 19: 998-1011.
25. Lizana, C., Wentworth, M., Martinez, J. P., Villegas, D., Meneses, R., Murchie, E. H., Pastenes, C., Lercari, B., Vernieri, P., Horton, P., and Pinto, M. 2006. Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress: I. Effects of drought on yield and photosynthesis. Journal of Experimental Botany 57: 685-697.
26. Mohammadi, M., Pouryousef, M., Tavakoli, A. and Mohseni Fard, E. 2019. Improvement in photosynthesis, seed yield and protein content of common bean (*Phaseolus vulgaris*) by foliar application of 24-epibrassinolide under drought stress. Crop and Pasture Science 70: 535-545.
27. Munoz-Perea, C., Teran, H., Allen, R., Wright, J., Westermann, D., and Singh, S. 2006. Selection for drought resistance in dry bean landraces and cultivars. Crop Science 46: 2111-2120.
28. Najaphy, A., Khamssi, N. N., Mostafaie, A., and Mirzaee, H. 2010. Effect of progressive water deficit stress on proline accumulation and protein profiles of leaves in chickpea. African Journal of Biotechnology 9: 7033-7036.
29. Neumann, P. M. 1995. The role of cell wall adjustments in plant resistance to water deficits. Crop Science 35 (5): 1258-1266.
30. Niknam, V., Razavi, N., Ebrahimzadeh, H., and Sharifizadeh, B. 2006. Effect of NaCl on biomass, protein and proline contents, and antioxidant enzymes in seedlings and calli of two Trigonella species. Biologia Plantarum 50: 591-596.
31. Ozdamir, F., Bor, M., Demiral, T., and Turkan, I. 2004. Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidative system of rice (*Oriza sativa* L.) under salinity stress. Plant Growth Regulation. 42: 203: 211.
32. Pfeiffer, W., and McClafferty, B. 2007. HarvestPlus: breeding crops for better nutrition. Crop Science 47: 88-105.
33. Prakash, M., Suganthi, S., Gokulakrishnan, J., and Sabesan, T. 2008. Effect of homobrassinolide on growth, physiology and biochemical aspects of sesame. Karnataka Journal of Agricultural Sciences 20: 110-112.
34. Rady, M. M. 2011. Effect of 24-epibrassinolide on growth, yield, antioxidant system and cadmium content of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants under salinity and cadmium stress. Scientia Horticulturae 129: 232-237.
35. Rezaei, Z. and Jabbari, F. 2015. Effect of drought stress on photo assimilate allocation of pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Iranian Journal of Field Crop Science 46 (2): 217-226. (in Persian).
36. Romdhane, S. B., Trabelsib, M., Elarbi, M., Lajudie, P., and Mhamdia, R. 2009. The diversity of rhizobia nodulating chickpea (*Cicer arietinum*) under water deficiency as a source of more efficient inoculants. Soil Biology and Biochemistry 41: 2568-2572.
37. Salehpour, M., Ebadi, A., Izadi, M., and Jamaati-e-Somarin, S. 2009. Evaluation of water stress and nitrogen

fertilizer effects on relative water content, membrane stability index, chlorophyll and some other traits of lentils (*Lens culinaris* L.) under hydroponics conditions. Research Journal of Environmental Sciences 3: 103-109.
38. Saxena, C. M., Silim, S. N., and Singh, B. K. 1990. Effect of supplementary irrigation during reproductive growth on winter and spring chickpea (*Cicer arietinum* L.) in a Mediterranean environment. Journal of Agricultural Science 114: 285-293.
39. Sengupta, K., Mitra, S., and Ray, M. 2009. Effect of brassinolide on growth and yield of summer greengram crop. Indian Agriculturist 53: 155-157.
40. Shenkut, A. A., and Brick, M. A. 2003. Traits associated with dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) productivity under diverse soil moisture environments. Euphytica 133 (3): 339-347.
41. Siddiqui, M. H., Al-Khaishany, M. Y., Al-Qutami, M. A., Al-Whaibi, M. H., Grover, A., Ali, H. M., Al-Wahibi, M. S., and Bukhari, N. A. 2015. Response of different genotypes of faba bean plant to drought stress. International Journal of Molecular Sciences 16: 10214-10227.
42. Singh, K. B., and Saxena, M. C. 2000. Breeding for stress tolerance in cool season food legumes. First Edition (Translation: A.R. Bagheri, A. Nezami, and M. Soltani). Research Organizations, Education and Agricultural Extension. Pp: 445.
43. Sivaramaiah, N., Malik, D. K., and Sindhu, S. S. 2007. Improvement in symbiotic efficiency of chickpea (*Cicer arietinum*) by coinoculation of Bacillus strains with Mesorhizobium sp. Cicer. Indian Journal of Microbiology 47: 51-56.
44. Smart, R. E., and Bingham, G. E. 1974. Rapid estimates of relative water content. Plant Physiology 53: 258-260.
45. Sundaresan, S., and Sudhakaran, P. 1995. Water stress-induced alterations in the proline metabolism of drought-susceptible and-tolerant cassava (*Manihot esculenta*) cultivars. Physiologia Plantarum 94: 635-642.
46. Svetleva, D., Krastev, V., Dimova, D., Mitrovska, Z., Miteva, D., Parvanova, P., and Chankova, S. 2012. Drought tolerance of Bulgarian common bean genotypes, characterised by some biochemical markers for oxidative stress. Journal of Central European Agriculture 13: 349-361.
47. Talaat, N., and Shawky, B. 2013. 24-Epibrassinolide alleviates salt-induced inhibition of productivity by increasing nutrients and compatible solutes accumulation and enhancing antioxidant system in wheat (*Triticum aestivum* L.). Acta Physiologiae Plantarum 35: 729-740.
48. Talaat, N., and Shawky, B. 2016. Dual application of 24-epibrassinolide and spermine confers drought stress tolerance in maize (*Zea mays* L.) by modulating polyamine and protein metabolism. Journal of Plant Growth Regulation 35: 518-533.
49. Thussagunpanit, J., Jutamanee, K., Sonjaroon, W., Kaveeta, L., Chai-Arree, W., Pankean, P., and Suksamrarn, A. 2015. Effects of brassinosteroid and brassinosteroid mimic on photosynthetic efficiency and rice yield under heat stress. Photosynthetica 53: 312-320.
50. Yasar, F., Uzal, O., and Ozpay, T. 2010. Changes of the lipid peroxidation and chlorophyll amount of green bean genotypes under drought stress. African Journal of Agricultural Research 5: 2705-2709.
51. Zhang, M., Zhai, Z., Tian, X., Duan, L., and Li, Z. 2008. Brassinolide alleviated the adverse effect of water deficits on photosynthesis and the antioxidant of soybean (*Glycine max* L.). Plant Growth Regulation 56: 257-264.
52. Zhanli, L., Li, L., Fangfang, Z., Lei, J., and Kaichen, T. 2016. Effect of brassinolide on energy status and proline metabolism in postharvest bamboo shoot during chilling stress. Postharvest Biology and Technology 111: 240-246.

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 19, No. 2, Summer. 2021, p. 169-184

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد 19، شماره 2، تابستان 1400، ص. 184-169

The Effect of Epibrassinolide Application on Photosynthetic Material Allocation, Drought Tolerance, and Seed Yield of two Pinto Bean Genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.)

M. Mohammadi[1*], M. Pouryousef[2], A. Tavakoli[3]

Received: 11-01-2021
Accepted: 31-05-2021

Introduction

Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is a food crop with high protein, fiber, and minerals. One of the important issues in the formation of seed yield is how photosynthetic materials are allocated in plants. This may be especially important when the plant is experiencing drought stress. Brassinosteroids are a group of steroid hormones that have been implicated in a wide range of physiological processes. Brassinosteroids increase crop yield by altering plant metabolism and protecting plants from environmental stresses. Considering that one of the major problems of agriculture is water shortage, the present study was assessed aimed to investigate the effect of Epibrassinolide application on the allocation of photosynthetic materials and some traits related to drought resistance in two common bean genotypes under optimal irrigation and drought stress conditions and the possibility of increasing common bean seed yield by using this hormone.

Materials and Methods

In order to investigate the effect of Epibrassinolide application on photosynthetic material allocation and the possibility of increasing common bean seed yield by application of this hormone, an experiment was conducted in split factorial based on randomized complete block design at the research farm of the University of Zanjan during 2016-2017. In this experiment, optimal irrigation and drought stress were applied to main plots and common bean genotypes (at two levels of Kusha cultivar and COS16 genotype) and different concentrations of Epibrassinolide (at four levels of no application or control, 2, 4, and 6 μM) were allocated to sub plots as factorial. In the flowering stage, drought stress was applied and simultaneously with drought stress, common bean plants, were sprayed with Epibrassinolide. In this study, relative water content, proline content, and malondialdehyde content were studied at the peak of the drought stress. Also, dry weights of leaf, stem, and pod and the ratio of leaf, stem, and pod dry weights to total plant weight were studied at two times (peak of the drought stress and one week after re-irrigation).

Results and Discussion

The results showed that drought stress decreased dry weights of leaf, stem, pod, and seed yield compared to the optimal irrigation. Common bean plant under drought stress allocated less photosynthetic materials to leaves and stems and more photosynthetic materials to pods. The Kusha cultivar under optimal irrigation had the highest seed yield (with an average of 3025.45 kg ha^{-1}) and the COS16 genotype under drought stress had the lowest one (with an average of 980.89 kg ha^{-1}). The Kusha cultivar in optimal irrigation condition was the superior genotype due to its high seed yield, but drought stress had a more negative effect on the Kusha cultivar. Also, application of different concentrations of Epibrassinolide increased dry weights of leaf, stem, pod, and seed yield compared to the control. The highest seed yield was obtained by application of 2 μM Epibrassinolide (with an average of 2068.2 kg ha^{-1}). So that, application of this concentration increased the seed yield by 46.07% compared to the control. Epibrassinolide application also increased the drought stress tolerance by decreasing the amount of malondialdehyde and increasing the relative leaf water content and proline content.

Conclusions

Therefore, application of Epibrassinolide can be suggested as a solution to increase common bean seed yield

1- PhD in Plant physiology, Faculty of Agriculture, University of Zanjan
2- Associate Professor, Department of production engineering and plant genetics, Faculty of Agriculture, University of Zanjan
3- Associate Professor, Department of production engineering and plant genetics, Faculty of Agriculture, University of Zanjan
(*- Corresponding Author Email: mahsa89.mohammadi@gmail.com)

and increase drought tolerance of this plant. In addition, obtaining comprehensive information on the positive effects of Epibrassinolide requires the study of this hormone in different climatic conditions.

Keywords: Drought stress, Malondialdehyde, Proline, Relative water content, Seed yield